Aus der inneren Abteilung des Krankenhauses Magdeburg-Sudenburg.
(Direktor: Dr. Schreiber.)

Kritische Untersuchungen über die Blutzuckerbestimmung nach Möckel-Frank, Reicher-Stein und die Mikromethode nach Bang.

ACAD
LUGD.BAT.
BIBL.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshülfe

der

Hohen medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Walter Westphal

zurzeit Medizinalpraktikant am herzoglichen Landkrankenhause zu Gotha.

Göttingen 1913.
Druck der Dieterich'schen Univ.-Buchdruckerei
(W. Fr. Kaestner).

Der medizinischen Fakultät der Universität Göttingen vorgelegt am 28. Juli 1913.

Referent: Herr Prof. Dr. Hirsch.

Die Drucklegung ist seitens der Fakultät genehmigt.

Daß man über den Gehalt des menschlichen Blutes an Zucker unter den verschiedenen normalen und pathalogischen Zuständen bis zum heutigen Tage verhältnismäßig wenig weiß, liegt zweifellos an der Schwierigkeit, mit der die exakte Bestimmung des Blutzuckers verknüpft ist. Keine der bisherigen Methoden der Blutzuckerbestimmung hat sich so eingebürgert, daß sie Allgemeingut der Klinik geworden wäre. Die größte Anerkennung hat sich bisher die Möckel-Frank'sche Methode, die erst kürzlich eine kritische Beleuchtung und Verbesserung durch Rolly[1] erfahren hat, erworben.

Ich habe es mir nun zur Aufgabe gemacht, mit ihr zwei einfachere Methoden der Blutzuckerbestimmung, nämlich die von Reicher-Stein[2] und die Mikromethode von Bang[3] zu vergleichen und auf ihre Brauchbarkeit für die Klinik zu prüfen.

Die Bestimmung des Blutzuckers zerfällt in zwei Teile. Der Zucker muß zunächst von den übrigen Blutbestandteilen insbesondere dem Eiweiß getrennt werden, dann erst kann an seine eigentliche quantitavise Bestimmung herangegangen werden.

Die Enteiweißung hat man auf die verschiedenste Weise zu erzielen versucht. Ich erwähne hier nur

kurz die Koagulation des Blutes durch Alkohol, durch überhitzten Wasserdampf, sowie durch Erhitzen mit Natriumsulfat. Eine der gebräuchlichsten Methoden ist die von Michaelis und Rona[4] angegebene Fällung des Eiweiß mit kolloidalem Eisenhydroxyd (Liquor ferri oxydati dialysati). Bang[3] benutzt zur Enteiweißung heiße Kaliumchloridlösung und Essigsäure.

Was nun die eigentliche Bestimmung des Zuckers anbetrifft, so kommen als wichtigste Methoden in Betracht: die Bestimmung durch Gärung, durch Polarisation und endlich die Reduktionsmethoden. Zu diesen kommt neuerdings die von Reicher und Stein[2] angegebene kolorimetrische Methode. Sie beruht auf der sogenannten für die Kohlenhydrate charakteristischen Furfurolfarbenreaktion, die beim Zusammenbringen von Zucker, Schwefelsäure und Naphthol eintritt. Nach der Intensität der eintretenden Rotfärbung läßt sich durch Vergleich mit Zuckerlösungen von bekannter Konzentration der Zuckergehalt der zu untersuchenden Lösung bestimmen. Auf ähnlichem Wege haben bereits Schittenhelm und Bendix den Harnzucker quantitativ zu bestimmen versucht. Sie haben die beim Kochen zuckerhaltigen Urins mit Kalilauge auftretende Braunfärbung kolorimetrisch verwendet. Mit Hilfe des von ihnen angegebenen Chromosaccharometers ist man in relativ kurzer Zeit imstande durch Vergleich der Farbe des mit Kalilauge versetzten und zum Kochen gebrachten Urins mit der Farbe einer Standardlösung den Zuckergehalt quantitativ zu bestimmen. Von den Reduktionsmethoden ist die bekannteste die Bertrandsche, deren sich auch Möckel und Frank[5] bedienen.

Wie eingangs bemerkt ist, habe ich mich mit den drei Methoden der Blutzuckerbestimmung, der Möckel-Frank'schen, der Stein-Reicher'schen und der Bang'schen genauer beschäftigt. Im voraus bemerken möchte ich, daß ich stets das Gesamtblut, nicht nur das Serum oder Plasma untersucht habe. Bevor ich jedoch die Blutuntersuchung vornahm, habe ich immer erst Traubenzuckerlösungen von bekannter Konzentration untersucht, um mich in die Methode einzuarbeiten.

A. Die Möckel-Frank'sche Methode.

Die Ausführung der Bestimmung[5] geschieht folgendermaßen: 5 ccm Blut, das unter Fluornatrium entnommen wird, werden mittelst 40 ccm der auf das doppelte verdünnten Eisenhydroxydlösung unter Zusatz einer Messerspitze von Seignettesalz enteiweißt. Die Lösung wird bis auf 100 ccm verdünnt und durch ein Faltenfilter filtriert. Man erhält ein klares eiweißfreies Filtrat. Mit 50 ccm desselben wird dann die eigentliche Bestimmung vorgenommen, indem das Filtrat mit der gleichen Menge einer Kupfersulfatlösung (Bertrand'sche Lösung I), und dann der gleichen Menge einer Seignettesalz enthaltenden Ätznatronlösung (Bertrand'sche Lösung II) versetzt wird. Die Mischung wird 3 Minuten lang gekocht, sodann abgekühlt und durch ein Asbestfilter filtriert. Das niedergeschlagene Kupferoxyd bleibt zum Teil auf dem Boden des Kochkolbens, zum Teil auf dem Asbest liegen. Es wird durch eine Ferrisulfatlösung gelöst und das entstandene

Ferrosulfat wird mit einer Kaliumpermanganatlösung titriert. Nach der verbrauchten Kaliumpermanganatlösung läßt sich mittelst der Bertrand'schen resp. Möckel-Frank'schen Tabelle die Menge des Blutzuckers bestimmen. Die Methode hat, wie das auch Rolly[1] in seiner eingehenden Untersuchung hervorhebt, verschiedene Fehlerquellen. Um diese zu umgehen ist ein sorgfältiges Einarbeiten durchaus erforderlich, was nicht gerade leicht ist. Dazu kommt, daß die Methode ziemlich umständlich und zeitraubend ist, und die Ergebnisse sind im Vergleich zu dem Zeitaufwande, den die Untersuchung erfordert, nicht immer völlig befriedigend. Zu demselben Resultat ist auch Schirokauer[6] gekommen, der sich ebenfalls mit der Möckel-Frank'schen Methode eingehend beschäftigt hat. Er fand bei der Bestimmung des Zuckers im Serum zuverlässige Resultate, konnte aber bei der Untersuchung des Gesamtblutes »trotz Beobachtung der von Möckel und Frank gegebenen Vorschriften (wie Abkühlen der reduzierten Flüssigkeit) nur selten ein völliges Übereinstimmen in den Werten der Doppelbestimmungen erzielen«.

Recht mühsam ist bei der Möckel-Frank'schen Methode die Enteiweißung, worauf aber besonderes Gewicht zu legen ist. Es ist peinlichst darauf zu achten, daß sich bei sehr langsamem Zusetzen der Eisenhydroxydlösung keine dickeren Klumpen bilden, sondern möglichst feine Flocken. Man bedient sich dabei nach dem Vorschlage von Rolly[1] am besten einer genau geaichten Bürette und läßt aus dieser die Eisenhydroxydlösung tropfenweise zufließen. Um dabei eine völlig gleichmäßige dickflüssige Masse zu be-

kommen, muß man sehr lange und sehr kräftig schütteln. Statt dabei den Kolben mit dem Finger zu verschließen, ist es ratsamer, ein Kölbchen mit eingeschliffenem Glasstöpsel zu benutzen. An den Fingern bleibt bei dem Schütteln immer etwas von der Flüssigkeit haften, und da man den Finger sehr oft wieder abnehmen muß, um Eisenhydroxyd zuzusetzen, so geht auf diese Weise immer etwas verloren.

Eine weitere Schwierigkeit, durch welche die Bestimmung sehr viel Zeit erfordert, ist das Filtrieren der zu enteiweißenden Flüssigkeit. Das Filtrieren geht, wie Möckel und Frank[5] selber sagen, sehr langsam vor sich. Ich habe fast stets länger als eine Stunde, zuweilen 1½ Stunden gebraucht, um die zur Bestimmung nötigen 50 ccm zu bekommen. Verschiedene Male ist es mir auch nach längerem Warten nicht gelungen, die erforderliche Menge des Filtrats zu erhalten. Ich habe dann die Bestimmung mit einer geringeren Menge (40 resp. 45 ccm) ausführen müssen. Meine Versuche das Filtrieren zu beschleunigen z. B. durch Asbest oder gehärtete Filter unter Anwendung der Saugpumpe schlugen fehl. Ein zu großes Faltenfilter ist aber auch nicht zu gebrauchen, da das Papier dann zuviel Flüssigkeit aufsaugt, sodaß man keine 50 ccm mehr erhält. Ratsam ist es auch, sich in jedem Fall davon zu überzeugen, daß die Flüssigkeit sich nach Zusatz von Sulfosalicylsäure als eiweißfrei erweist.

Bei meinen ersten Versuchen habe ich oft zu hohe Werte erhalten. Anfangs war ich geneigt, der Kochdauer eine größere Bedeutung zuzuschreiben. Um dies zu kontrollieren machte ich folgenden Versuch: Ich untersuchte eine 0,1 % Traubenzuckerlösung, wobei ich

das eine Mal 3 Minuten, das andere Mal 4 Minuten lang kochte. Das Ergebnis war:

bei 3 Minuten Kochdauer 0,135 %
bei 4 » » 0,115 ».

Als ich aber dann dieselbe Zuckerlösung noch öfters untersuchte, beobachtete ich, daß die Resultate untereinander mehr differierten als die oben angeführten, bei verschiedener Kochdauer gewonnenen. Ich fand bei derselben Zuckerlösung bei 4 verschiedenen Bestimmungen:

0,155 %
0,125 »
0,185 »
0,135 »

Also kann die Kochdauer allein nicht so großen Einfluß haben.

Diese Werte sind alle bedeutend zu hoch; 0,185 bedeutet einen Fehler von 85 %, mit anderen Worten, das Ergebnis ist in diesen Fällen so ungenau, daß es praktisch nicht zu verwenden ist. Die Ursache dieser bedeutenden Abweichung habe ich festzustellen mich bemüht. Sie ist zweifellos mit dem Hindurchsaugen durch das Asbestfilter verbunden. Zunächst ist es ziemlich schwer, ein gutes Asbestfilter zu bekommen. Wie dasselbe herzustellen ist, läßt sich kaum gut beschreiben, sondern nur durch eigene Übung ermitteln. Ist das Asbestfilter zu dicht, so bekommt man das gelöste Kupfer selbst durch wiederholtes Auswaschen nicht sicher heraus. Ist es nicht dicht genug, so wird das ungelöste Kupferoxydul mit der blauen Flüssigkeit durch das Filter hindurchgesogen. Je dichter das Filter

ist, um so gründlicher muß man also auswaschen und um so länger dauert natürlich die Untersuchung. Erst nach einiger Übung ist es mir gelungen ein brauchbares Filter herzustellen. Ich habe mich dabei des von Rolly und Oppermann[1] empfohlenen Gooche-schen Tiegels bedient und denselben als durchaus geeignet befunden. Man braucht verhältnismäßig wenig Asbest und das Filtrat ließ sich ziemlich rasch auswaschen. Trotzdem habe ich gefunden, daß ein sehr häufiges Auswaschen nötig ist, ich habe stets 15 bis 20 mal durchgewaschen. Nach 10 maligem Durchwaschen habe ich wiederholt in der Spülflüssigkeit noch Spuren von Ferrisulfat nachweisen können. Bleibt auch nur eine Spur von Ferrisulfat in dem Filter zurück, so ist dasselbe für die nächste Bestimmung unbrauchbar, weil das Kupferoxydul sofort beim Filtrieren gelöst wird. Das so häufige Auswaschen des Filters macht die Methode zu einer zeitraubenden Arbeit.

Von großer Wichtigkeit ist es die Ferrisulfatlösung darauf hin zu prüfen, ob sie frei von Ferrosulfat ist und die Kaliumpermanganatlösung nicht entfärbt, wie das auch in der Originalbeschreibung von Möckel und Frank[5] angegeben ist. Einmal habe ich mit einer frischen Ferrisulfatlösung eine große Anzahl von Zuckerbestimmungen ausgeführt, und habe jedesmal zu hohe Werte erhalten. Es stellte sich dann heraus, daß die Ferrisulfatlösung an sich schon Kaliumpermanganat entfärbte.

Beim Lösen des Kupferoxyduls ist es ratsam das Ferrisulfat zuerst in den Kochkolben zu tun, denselben tüchtig umzuschütteln, die Lösung auf das Filter zu bringen und zunächst noch nicht zu saugen. Man

wartet dann am besten 2 bis 3 Minuten, läßt die ersten Tropfen des Ferrisulfats von selbst hindurch laufen und beginnt nun erst mit dem Saugen.

Ich habe zunächst einige Untersuchungen mit defibriniertem Tierblut und zwar Hammelblut gemacht. Ich nahm absichtlich altes Blut, das, wie ich auch bei der Untersuchung nach einer andern Methode fand,zuckerfrei war, und setzte ihm Traubenzucker in Substanz zu und zwar zu 50 ccm Blut 0,1 Gramm Traubenzucker. Wenn wir annehmen, daß das Blut vorher keinen Zucker enthielt, so hatte es jetzt wenigstens 0,2 % Zucker. Bei Untersuchung dieses Blutes fand ich nach Frank bei mehreren Untersuchungen im Durchschnitt 0,195 %. Es ist dies ein Wert, der mit dem wirklichen praktisch übereinstimmt.

Dann habe ich defibriniertes Menschenblut frisch untersucht und bei mehreren Untersuchungen im Durchschnitt 0,10 % gefunden. Dasselbe Blut habe ich 30 Stunden später untersucht und dabei nur 0,06 % gefunden. Da ich aber etwa den gleichen Wert auch nach einer andern Methode gefunden habe, muß ich annehmen, daß in dieser Zeit eine Glykolyse stattgefunden hat. Die Untersuchung einer andern Blutsorte (defibr. Menschenblut, das schon eine Zeit lang gestanden hatte) ergab 0,055 %.

Zu demselben Blut habe ich Zucker zugesetzt und zwar zu 23 ccm Blut 0,02 gr Traubenzucker.

Das Blut mußte also enthalten:

0,055 %
+ 0,08 »

im Ganzen 0,135 %.

Bei der Untersuchung dieses Blutes fand ich bei zwei Bestimmungen:

0,125 %
0,14 »

im Durchschnitt 0,132 %.

Demselben Blut wurde die gleiche Menge einer 0,1 %igen Traubenzuckerlösung zugesetzt.

Resultat:

0,15 %
0,13 »
0,16 »

im Durchschnitt also 0,153 %,

es mußte enthalten:

0,055 %
0,1 »

0,155 %.

Die Untersuchung einer andern Menge von defibriniertem Blut, welches eine Zeit lang gestanden hatte ergab:

ohne Zusatz	mit Zusatz von Zucker
	0,11 %
0,06 %	0,13 »
0,06 »	0,15 »
Durchschnitt 0,06 %	Durchschnitt 0,18 %
Es mußte enthalten:	0,16 ».

Ziehen wir aus diesen Untersuchungen das Resultat, so zeigt sich, daß die Werte im allgemeinen gut übereinstimmen. Bedingung ist aber, daß man in

die Methode sicher eingearbeitet ist. Somit stehen meine Ergebnisse mit den von Rolly und Oppermann[1] gefundenen Tatsachen im Einklang.

Durch das Filtrieren bei der Enteiweißung und durch das Hindurchsaugen durch das Asbestfilter nach dem Kochen nimmt aber jede Bestimmung 1½ bis 2 Stunden Zeit in Anspruch. Das ist ein Nachteil der Methode. Serienuntersuchungen über die Schwankungen im Blutzuckergehalt sind wegen der langen Untersuchungsdauer nach der Frank'schen Methode daher kaum möglich, wenn man dabei auch ganz von den Blutmengen absieht, die man für solche Untersuchungen nötig hätte, und die bei kleinen Tieren zweifelsohne nicht gleichgültig wären. Zu solchen Zwecken insbesondere ist eine einfache Methode wünschenswert, die es uns gestattet in kurzer Zeit eine große Menge von Bestimmungen auszuführen. Als solche käme ev. die oben erwähnte Stein-Reicher-sche[2] Methode der Blutzuckerbestimmung in Betracht.

B. Die Methode von Reicher und Stein.

Diese ist außerordentlich einfach und in kurzer Zeit zu erlernen, aber auch sie hat ihre Nachteile.

Die Ausführung der Untersuchung geschieht folgendermaßen: 2 ccm Blut werden in einem graduierten Röhrchen, das bis zu 20 ccm geaicht ist, aufgefangen und durch Zusatz von 8 ccm destillierten Wassers vor Gerinnung geschützt. Diese Blutmenge wird nach Zusatz von 2 bis 3 ccm konzentrierter Kaliumsulfatlösung mit Hilfe von 6 bis 7 ccm Liquor-Ferri-oxydat.

dialysat. enteiweißt und, nachdem das Ganze bis zur Marke 20 aufgefüllt ist, durch ein kleines Faltenfilter filtriert. Darauf werden in 2 ebenso graduierten Röhrchen auf 10 ccm konz. Schwefelsäure je eine α-Naphtholtablette geworfen und der einen Mischung 2 ccm einer 0,02 %igen Traubenzuckerlösung, der anderen 2 ccm des eben gewonnenen Filtrats zugesetzt. Beide Gemische werden bis zur Marke 20 mit konz. Schwefelsäure aufgefüllt und nach dem Erkalten in die beiden zylindrischen Gefäße des Chromoskops gegossen. Darauf wird die zu untersuchende Flüssigkeit so eingestellt, daß der Zeiger auf Teilstrich 10 der Skala steht, die Testlösung wird solange hin und her geschoben, bis beim Hineinsehen in das Okular Farbengleichheit eintritt. Die an der Skala abgelesene Zahl ergibt mit 2 multipliziert und durch 100 dividiert die Traubenzuckermenge in Prozenten. Ich habe mich bei meinen Untersuchungen des Chromoskops nach Stein bedient.

Bei den Untersuchungen von Zuckerlösungen habe ich sehr exakte Werte erhalten. Meist stimmten sie ganz genau mit dem wirklichen Werte überein, nur vereinzelt hatte ich ganz unerhebliche, praktisch nicht in Frage kommende Differenzen.

Bei Untersuchung einer 0,1 %igen Traubenzuckerlösung habe ich in vielen Untersuchungen fast durchweg 0,1 % als Ergebnis erhalten, zuweilen 0,095 %, wie die Tabelle S. 15 zeigt. Es ließ sich auch stets eine genaue Farbengleichheit erzielen. Bei mehrmaligem Einstellen war das Ergebnis stets dasselbe, und es war außerordentlich leicht, die Lösungen richtig einzustellen. Dagegen änderten sich die Ergebnisse, als ich

zu den Blutuntersuchungen überging. Trotz Befolgung aller von Reicher und Stein[2] gegebenen Vorschriften war es mir anfangs beim Blut vielfach nicht möglich Farbengleichheit zu erzielen. Es bestand eine solche Differenz in dem Farbentone, daß von einer genauen Einstellung nicht die Rede sein konnte. Wie ich aus der Literatur[1] ersehe, haben auch andere Untersucher die Reicher'sche Methode wegen des Unterschiedes im Farbentone und der Unmöglichkeit Farbengleichheit zu erzielen aufgeben müssen. Reicher gab dann auf Anfrage an, daß als Ursache des verschiedenen Farbentones folgende Punkte in Betracht kämen: entweder sei die Schwefelsäure nicht vollständig rein oder die Kontrollzuckerlösung sei zu alt gewesen, oder aber das Blut hätte zu lange gestanden, bevor es zur Untersuchung gelangt sei. Die Untersuchung müsse spätestens 1 bis 2 Stunden nach der Blutentnahme ausgeführt werden. Und schließlich weist er darauf hin, daß das α-Naphthol in gut verschlossenen Kästen vor Licht geschützt aufbewahrt werden müsse. Ich habe nun Untersuchungen daraufhin angestellt, inwiefern das Aufbewahren des Blutes als Ursache der Farbendifferenz in Betracht kommt. Ich habe folgenden Versuch gemacht.

Von derselben Menge Blut wurde die eine Menge auf Eis gestellt (I) und die andere im Brutschrank bei 37° aufbewahrt (II). Beide wurden dann nach ca. 4 Stunden untersucht, Von 8 Proben wurde nur bei einer einzigen und zwar von dem auf Eis gehaltenen Blut eine abweichende Farbe beobachtet, es war aber noch eine Ablesung möglich.

I.

				%	
1)	2 ccm Blut			5,75	−0,115
2)	1,9 »	»	+0,1 ccm Zuckerl.(0,1 : 100)	6,0	−0,12
3)	1,7 »	»	+0,3 »	5,5	−0,110
4)	1,8 »	»	+0,2 »	5,5	−0,110

II.

1)	2 ccm Blut			5,5	−0,110
2)	1,9 »	»	+0,1 ccm Zuckerl. (0,1 : 100)	5,5	−0,110
3)	1,7 »	»	+0,3 »	5,5	−0,110
4)	1,8 »	»	+0,2 »	5,5	−0,110

Erst wenn das Blut längere Zeit, z. B. über 24 Stunden gestanden hat, dann allerdings kommen sehr krasse Farbenunterschiede vor, die ein Ablesen unmöglich machen. In einem solchen Falle konnte ich zum Beispiel bei der Probe einen gelblichen Ton beobachten; stellte ich dann die Vergleichsskala auf 20 ein, so wurde die Farbe zwar wieder rötlich und gleich, indessen ergab dann die Ablesung eine derartige Differenz, die vollkommen falsch war, wie folgendes Beispiel zeigt:

		%
1)	Blut nach 24 St. Verglskala a. 20 Ablesgn.	14,0
2)	Dasselbe Blut » » »	14,0
3)	» » » » »	14,5

Mithin wurden in diesen 3 Versuchen mehr gefunden als am Tage vorher, an dem das frische Blut 0,11 % ergab. Das Blut enthielt höchstens 0,05 bis 0,06 %, wie sich aus Versuch I S. 16 ergibt.

Selbst wenn man diesem Blut dann eine bestimmte Menge Zucker zusetzte, so wurde die Farbe nicht wieder ganz gleich, sodaß ein Ablesen unmöglich war:

I. Zu 10 ccm desselben Blutes werden 0,016 g Zucker zugesetzt.

Die Bestimmung ergab:

1) 11,0 = 0,22 %.
2) 11,5 = 0,23 »

Der Berechnung nach hätte darin enthalten sein können, resp. müssen:

höchstens		mindestens
0,11 %	(vorher vorhanden)	0,16 %
+ 0,16 »	(zugesetzt)	+ 0,06 »
0,27 %		0,22 %.

II. Zu 6 ccm desselben Blutes wurden zugesetzt 0,0112 g Zucker.

Die Bestimmung ergab:

1) 9,5 = 0,19 %
2) 10,0 = 0,20 ».

Der Berechnung nach hätten darin enthalten sein können resp. müssen:

höchstens		mindestens
0,110 %	(vorher vorhanden)	0,18 %
0,186 »	(zugesetzt)	0,06 »
0,296 %		0,24 %.

Wie ich noch zeigen werde, kann für die Farbenunterschiede zwar auch der zu geringe Blutzuckergehalt verantwortlich sein, indessen kann dies nicht

die alleinige Ursache der Farbendifferenz sein. Offenbar bilden sich bei der Glykolyse Stoffe, die die Farbendifferenz bedingen.

Um mich von der Genauigkeit der Methode zu überzeugen, habe ich von einer 0,02 % Zuckerlösung der Reihe nach bestimmt:

0,1 dieser Lösung ergab Farbenunterschiede, sodaß ein Ablesen unmöglich war.

0,2 desgl.

0,3 »

0,4 »

0,5 »

0,6 »

0,7 bei Vergleichskala 20 – 6,5 = 0,0065 %
berechnet 0,007 »
Differenz 0,0005 %

0,8 » » 20 – 8,0 = 0,008 %
berechnet 0,008 »
Differenz 0 %

0,9 » » 20 – 8,5 = 0,0085 %
berechnet 0,009 »
Differenz 0,00005 %

1,0 » » 20 – 8,5 = 0,0085 %
berechnet 0,01 »
Differenz 0,00095 %

1,1 » » 20 – 10,0 = 0,010 %
berechnet 0,011 »
Differenz 0,001 %

1,2	bei Vergleichskala	20 − 12,0 = 0,012	%
		berechnet 0,012	»
		Differenz 0	%
1,3	» »	20 − 13,0 = 0,013	%
		berechnet 0,013	»
		Differenz 0	%
1,4	»	20 − 14,0 = 0,014	%
		berechnet 0,014	»
		Differenz 0	%
1,5	» »	20 − 15,5 = 0,015	%
		berechnet 0,015	»
		Differenz 0	%
1,6	» »	20 − 16,0 = 0,016	%
		berechnet 0,016	»
		Differenz 0	%
1,7	» »	20 − 16,0 = 0,016	%
		berechnet 0,017	»
		Differenz 0,001	%
1,8	«	20 − 18,0 = 0,018	%
		berechnet 0,018	»
		Differenz 0	%
1,9	»	20 − 19,0 = 0,019	%
		berechnet 0,019	»
		Differenz 0	%
2,0	» »	20 − 0,02 = 0,02	%
		berechnet 0,02	»
		Differenz 0	%.

Dabei ergab sich also, daß die Werte bis 0,7 entsprechend einem Zuckergehalt von 0,0012 nicht mehr abgelesen werden konnten, weil die Farben nicht gleich waren, im übrigen stimmen dann die Zahlen sehr gut überein.

Auch dieser Versuch mit wäßriger Zuckerlösung zeigte ohne weiteres, daß die Ursache für die Farbenverschiedenheiten nicht allein in der Unreinheit der Reagentien liegen, vielmehr trägt hier der geringe Gehalt an Zucker Schuld an der Farbendifferenz, damit würde sich dann auch sehr wohl die Tatsache in Einklang bringen lassen, daß das Blut, welches längere Zeit gestanden hat, bei dem dann zweifellos der Blutzuckergehalt abgenommen hat, Farbenverschiedenheit aufweist, soweit hier nicht Zersetzungsprodukte mitsprechen. Daß man auf die Reinheit der Chemikalien allerdings sehr achten muß, zeigte uns folgende Beobachtung. Wir hatten eine Serie Blutuntersuchungen gemacht, die sehr gut übereinstimmten, dann brachen wir ein neues Röhrchen mit Tabletten an, und bemerkten nun, daß sämtliche Versuche die wir damit anstellten, fehlerhaft waren, und zwar konstatierten wir, daß beim Lösen der Tabletten eine grünliche Farbe auftrat, alle weiteren Tabletten dieses Röhrchens gaben dasselbe Resultat. Diese Tabletten gaben eine derartige Farbendifferenz, daß eine Ablesung nicht mehr möglich war.

Zuweilen ergab allerdings die Reicher'sche Methode, ohne daß ich eine Ursache dafür auffinden konnte etwas zu niedrige Werte, wie folgende Tabelle zeigt.

Vergleichsversuche mit Blut.

Bang – 0,13 %	Reicher – 0,08 %
» – 0,12 »	» – 0,08 »
» – 0,13 »	» – 0,08 »

Ein Gesamturteil über die Leistungsfähigkeit der Methode würde dahin abzugeben sein, daß sie bei Einhaltung gewisser Vorsichtsmaßregeln, wozu insbesondere gehören: Reinheit der Chemikalien, Untersuchung des frisch entnommenen Blutes, immerhin Resultate gibt, die für die klinische Beurteilung des einzelnen Falles ausschlaggebend sein können. Dagegen ist die Methode für exakt wissenschaftliche Untersuchungen zweifellos nicht geeignet, da die Differenzen im einzelnen aus bislang nicht zu übersehenden Gründen ziemlich erheblich sein können.

C. Die Mikromethode von Bang.

Die Bang'sche[3] Methode ist im Vergleich zu der Frank'schen einfacher. Vor den beiden vorgenannten Bestimmungen hat sie aber den Vorzug, daß man dabei mit kleinen Blutmengen auskommt und so ist sie zu Serienuntersuchungen sehr geeignet. Sie erfordert zwar ein sehr exaktes Arbeiten, gibt dann aber gute Resultate, bei verhältnismäßig geringem Zeitaufwand.

Bei dieser Methode wird das Kupferoxydul durch Jod titrimetrisch bestimmt und bei der Feinheit der Jodtitration lassen sich selbst die geringsten Mengen von Kupferoxydul quantitativ bestimmen.

Bang arbeitet mit Blutmengen von 0,1 bis 0,2 ccm. Er bestimmt die zur Untersuchung kommende Menge durch Aufsaugen in Filtrierpapier, welches er vor und nach dem Aufsaugen genau abwiegt. Bei Benutzung der von ihm angegebenen Wage ist das Verfahren ziemlich einfach, da diese jedoch teuer ist, habe ich die Methode insofern modifiziert, als ich die Blutmenge nicht durch Gewicht, sondern durch Maß bestimmte. Ich habe mich dabei einer genau geaichten 1 ccm Pipette bedient und die Bestimmung folgendermaßen ausgeführt: Mit einer 1 ccm Pipette wurde 0,1 ccm Blut in ein Reagenzglas abgemessen. Zu dem Blut wurde zunächst 2 ccm heiße Kaliumchloridlösung, sodann 2 bis 3 Tropfen Essigsäure zugesetzt. Die Mischung wurde durch ein ganz kleines Filter in einen 50 ccm-Kolben filtriert. Das Reagenzglas, sowie das Filter wurden nach und nach mit 9 ccm Kaliumchloridlösung sorgfältig ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit 3 ccm Kupfersulfatlösung auf einem Drahtnetz 2 Minuten lang gekocht, der Kochkolben durch einen über seiner Öffnung angebrachten Gummischlauch momentan geschlossen. Darauf wurde die Flüssigkeit schnell abgekühlt und unter Zusatz von CO_2 nach Zusatz von einem Tropfen Stärkelösung mit n/10 Jodlösung titriert.

Bei allen aufgeführten Versuchen habe ich 1/10 Jodlösung verwendet. Ich habe mich aber davon überzeugen können, daß bei der Verwendung von 1/100 Lösung die Fehlerquellen noch geringer werden, was ja selbstverständlich ist. Nur dauert dann die Titration etwas länger. Zum Einüben der Methode würde zwei-

fellos gerade die verdünnte Jodlösung am zweckmäßigsten sein.

Die Resultate stimmen, um es vorweg zu nehmen, in den weitaus meisten Fällen mit den von Bang selber gefundenen ziemlich genau überein. Allerdings ist auch bei dieser Methode einige Übung erforderlich. Ich habe in meinen ersten Versuchen nicht so exakte Werte erhalten wie in meinen späteren. Bei meinen ersten Untersuchungen, die ich mit Zuckerlösungen anstellte fand ich z. B. folgendes:

I. Untersucht: 0,2 ccm einer 0,2 Proz. Traubenzuckerlösung

Jodverbrauch 0,34 = (Bang 0,47).

II. Untersucht: 0,1 ccm einer 0,4 Proz. Lösung

Jodverbrauch 0,66 = (Bang 0,91).

Später, nachdem ich mich in die Methode eingearbeitet hatte, hatte ich weit genauere Resultate:

III. Untersucht 0,1 ccm einer 0,2 Proz. Lösung

Jodverbrauch 0,47 = (Bang 0,47).

IV. Untersucht 0,2 ccm einer 0,1 Proz. Lösung

Jodverbrauch 0,32 = (Bang 0,26).

V. Untersucht 0,2 ccm einer 0,1 Proz. Lösung

Jodverbrauch: 0,40
0,43
0,47
0,48
0,47

Durchschnitt 0,45 = (Bang 0,47).

VI. Untersucht 0,1 ccm einer 0,1 Proz. Lösung

Jodverbrauch: 0,27
0,25
0,25
0,25
0,27
0,24

Durchschnitt 0,25 = (Bang 0,26).

VII. Untersucht 0,1 ccm einer 0,29 Proz. Lösung

Jodverbrauch: 0,63
0,58
0,63
0,61

Durchschnitt 0,61 = (Bang 0,67).

VIII. Dieselbe Lösung mit der gleichen Menge Wasser versetzt, davon untersucht 0,1 ccm

Jodverbrauch: 0,31
0,32
0,26
0,33

Durchschnitt 0,29 = (Bang 0,34).

Ebenso günstige Resultate wie mit den Zuckerlösungen habe ich auch bei meinen Blutuntersuchungen erhalten.

I. Versuch: Zu 50 ccm altem defibriniertem, fast zuckerfreiem Blut werden 0,1 g Traubenzucker in Substanz zugesetzt.

Untersucht	0,1 ccm.
Jodverbrauch	0,52 „ .

Bei 0,2 Proz. hätte dies Blut nach Bang nur ergeben dürfen an

Jodverbrauch	0,47 ccm.
Wir haben aber gebraucht	0,52
Ziehen wir hiervon	0,47
ab, so erhalten wir als Differenz	0,05 ccm,

dieses entspricht einem kleinen Rest von Zucker in dem alten Blut.

II. Versuch: Untersuchung von frischem defibriniertem Menschenblut.

Untersucht	0,1 ccm
Jodverbrauch	0,29 »
	0,33 »
Durchschnitt	0,31 ccm entspr. 0,13 Proz.

Bei demselben Blute habe ich nach Frank gefunden:

	0,095 Proz.
	0,105
Durchschnitt	0,10 Proz.

Da die nach zwei verschiedenen Methoden gefundenen Ergebnisse ziemlich übereinstimmen, können wir sie wohl ohne weiteres als praktisch richtig ansehen.

Vergleichsversuche aus verschiedenen Blutsorten.

1.	0,26 %	9.	0,18 %
	0,25 »		0,18 »
	0,21 »	Durchschn.	0,18 %
Durchschn.	0,24 %	10.	0,16 %
2.	0,20 %		0,14 »
	0,24 »	Durchschn.	0,15 %
Durchschn.	0,22 %	11.	0,22 %
3.	0,23 %		0,23 »
	0,26 »	Durchschn.	0,225 %
Durchschn.	0,245 %	12.	0,26 %
4.	0,09 %		0,24 »
	0,09 »	Durchschn.	0,25 %
Durchschn.	0,09 %	13.	0,26 %
5.	0,12 %		0,26 »
	0,10 »	Durchschn.	0,26 %
Durchschn.	0,11 %	14.	0,13 %
6.	0,13 %		0,13 »
	0,14 »	Durchschn.	0,13 %
Durchschn.	0,135 %	15.	0,45 %
7.	0,13 %		0,44 »
	0,14 »	Durchschn.	0,445 %
Durchschn.	0,135 %	16.	0,23 %
8.	0,18 %		0,20 »
	0,16 »		0,23 »
Durchschn.	0,17 %	Durchschn.	0,22 %

Nach Traubenzucker-Infusion.

17.	0,29 %	18.	0,15 %
	0,30 »		0,15 »
Durchschn.	0,295 %	Durchschn.	0,15 %

Wie schon erwähnt habe ich anfangs bei diesen Untersuchungen mit defibriniertem Blut gearbeitet. Um das Defibrinieren zu umgehen setzt Frank dem Blut Fluornatrium zu. Ich habe nun einige Untersuchungen darüber angestellt, ob bei der Bang'schen Methode der Zusatz von Fluornatrium von Einfluß auf das Ergebnis ist. Ich habe defibriniertes Blut zunächst ohne, dann mit Fluornatriumzusatz untersucht und bin zu dem Ergebnis gekommen, daß das Fluornatrium keinen Einfluß auf die Reaktion hat:

I. Defibriniertes Blut

1. ohne Fluornatrium Jodverbrauch 0,33
2. mit Fluornatrium Jodverbrauch 0,35.

II. Defibriniertes Blut

1. ohne Fluornatrium Jodverbrauch 0,16
   0,16
2. mit Fluornatrium Jodverbrauch 0,15
   0,17.

Unter dieser Voraussetzung könnte man daran denken, das Blut in der Weise aufzufangen, daß man einige Tropfen desselben aus der Fingerkuppe direkt auf ein Uhrschälchen fallen läßt, welches ein paar Körnchen Fluornatrium enthält. Man könnte dann das Blut bequem mit einer Pipette hochziehen, oder man entnimmt das Blut direkt aus einer Vene oder Arterie mit einer Pravazspritze, die etwas Fluornatrium enthält.

Das Abmessen einer Menge von 0,1 ccm mit einer 1 ccm Pipette ist für diese Bestimmung noch nicht genau genug. Die Länge, welche die abzumessende Menge in dem Lumen der Pipette einnimmt, ist nur etwa 2½ bis 3 cm. Es ist klar, daß unter diesen Verhältnissen jeder Teil eines Tropfens sogar, der zuviel oder zu wenig abgemessen wird, das Resultat außerordentlich beeinflußt. Um dies zu beweisen, habe ich folgenden Versuch gemacht: Ich habe erstens die abgemessene Menge Blut aus der Pipette direkt in ein Reagenzglas fließen lassen, ohne mit der Spitze der Pipette die Wand des Reagenzglases zu berühren, und in zwei weiteren Versuchen habe ich von demselben Blut den nach dem Auslaufen des Blutes bis zu der betreffenden Marke an dem unteren Ende der Pipette hängenden Tropfen im Glasrande abgestreift. Das Ergebnis der Untersuchung war folgendes:

1. ohne den hängenden Tropfen Jodverbrauch 0,33
   0,30
2. mit » » » » 0,43
   0,43

Daraus folgt, daß dieser eine Tropfen etwa den dritten Teil der Blutmenge bedeutet. Da sich derartige, wenn auch zum Teil kleinere Fehler bei Benutzung einer 1 ccm Pipette selbst bei genauestem Arbeiten leicht einstellen können, würde es sich empfehlen, eine feinere Pipette zu benutzen. Man könnte jeder Schwierigkeit auch der Gerinnung des Blutes mit Leichtigkeit aus dem Wege gehen, durch Konstruktion einer besonderen in der Art der zum Zählen von Blutkörperchen verwandten Thoma-Zeiß'schen Pipette. Sie muß so

konstruiert sein, daß mit Hilfe einer angebrachten Marke die Menge von 0,1 resp. 0,2 ccm genau abzumessen ist. Die Pipette muß oberhalb der Marke genau wie die Zeiß'sche Pipette in eine Kugel übergehen, die etwa 0,5 ccm Volumen enthält. Man würde dann bei dem Abmessen wie zur Blutkörperchenzählung von einem hervorquellenden Blutstropfen bis zur Marke 0,1 resp. 0,2 hochsaugen, und destilliertes Wasser, oder gleich heiße Kaliumchloridlösung bis zu der Marke 0,5 nachsaugen. Sodann müßte man die gesamte Flüssigkeit in ein Reagenzglas ausblasen, die Pipette einige Male mit Kaliumchloridlösung auswaschen und könnte nun die Blutzuckerbestimmung in der vorgeschriebenen Weise vornehmen.

Eine Unbequemlichkeit bei der Bang'schen Methode besteht in der Kohlensäurezuleitung während der Titration. Durch einige Vergleichsbestimmungen mit und ohne Kohlensäurezuleitung ließ sich feststellen, daß die letztere doch nicht gut entbehrt werden kann. Bei einem Blut, bei dem ich mit Kohlensäurezuleitung 0,33 ccm Jod gebraucht hatte, gebrauchte ich ohne Kohlensäurezuleitung nur 0,22 ccm Jodlösung.

In einem anderen Falle gebrauchte ich mit Kohlensäurezuleitung 0,46 ccm Jodlösung, ohne Kohlensäurezuleitung 0,29 ccm Jodlösung. Es ist also doch notwendig mit Kohlensäurezuleitung zu arbeiten, was im übrigen in den meisten großen Krankenhäusern, wo eine Kohlensäurebombe zur Verfügung steht, kaum mit irgendwelchen Schwierigkeiten verbunden ist.

Endlich möchte ich noch einige Vergleichsbestimmungen zwischen der Bang'schen und der Frank'schen Methode anführen.

I. Zu 50 ccm altem defibrinierten Blut werden 0,1 g Traubenzucker in Substanz zugesetzt, davon untersucht nach Frank 5 ccm, nach Bang 0,1 ccm.

Ergebnis: Nach Frank 0,195 Proz.
nach Bang 0,52 ccm Jodlösung
entsprechend 0,226 Proz.

II. Frisches defibriniertes Menschenblut

1. nach Frank 0,095 Proz.
0,105 »

Durchschnitt 0,10 Proz.

2. nach Bang 0,29 » Jodlösung
0,33 » »

Durchschnitt 0,31 ccm »
entsprechend 0,125 Proz.

III. 30 Stunden altes Blut

1. nach Frank 0,06 Proz.
0,066 »

Durchschnitt 0,063 Proz.

2. nach Bang 0,15 ccm Jodlösung entsprech.
0,058 Proz.
0,15 ccm Jodlösung entsprech.
0,058 Proz.

Durchschnitt 0,058 Proz.

IV. Altes Blut mit Zuckerzusatz

1. nach Frank 0,11 Proz.
0,13 »
0,15 »

Durchschnitt 0,13 Proz.

2. nach Bang 0,33 ccm Jodlösung
0,30 » »
0,33 » »

Durchschnitt 0,32 ccm » = 0,13 Proz.

V. Altes Blut ohne Zusatz

1. nach Frank 0,05 Proz.
2. nach Bang 0,16 ccm Jodlös. = 0,06 Proz.

Wir sehen aus diesen Ergebnissen, daß die Durchschnittswerte nach Frank mit denen nach Bang gefundenen zwar ziemlich übereinstimmen, im allgemeinen sind aber die Werte etwas höher als nach Frank. Ferner fällt uns auf, z. B. in Versuch IV, daß die Frank'schen Werte untereinander größere Differenzen aufweisen als die Bang'schen, bei denen unter sich geringere Differenzen vorkommen. Wenn man nun berücksichtigt, daß man bei der Frank'schen Methode mit einer Blutmenge von 5 ccm arbeitet, also der 50fachen Menge als bei Bang, so müßte man den Schluß ziehen, daß die Bang'sche Methode im Verhältnis viel genauere Resultate gibt.

Schlußbetrachtung.

Wenn ich nun das Ergebnis meiner Untersuchungen zusammenfasse, so kann ich folgendes feststellen: Von den drei Methoden der Blutzuckerbestimmung, mit denen ich mich näher befaßt habe, hat sich die Möckel-Frank'sche Methode bei exaktem Arbeiten als durchaus zuverlässig erwiesen. Sie hat aber gewisse Nachteile: Sie ist nicht gerade leicht zu erlernen, erfordert

lange Übung, jede Untersuchung nimmt 2 bis 3 Stunden in Anspruch, sodaß es schwierig sein dürfte, viele Untersuchungen nebeneinander anzustellen. Sie erfordert verhältnismäßig große Mengen Blut, die zu entnehmen zumal bei kleineren Versuchstieren ein durchaus nicht immer vollkommen gleichgültiger Eingriff ist.

Die Stein-Reicher'sche Methode ist einfach zu erlernen, sie nimmt wenig Zeit in Anspruch. Sie gibt bei Zuckerlösungen von nicht allzugeringer Konzentration sehr genaue Resultate. Die Blutbestimmungen jedoch scheitern gelegentlich an dem wechselnden Farbentone der beiden Lösungen. Zuweilen ist die Ursache der Farbenunterschiede in dem geringen Zuckergehalte zu suchen, der besonders deutlich bei Untersuchungen mit Blut auftritt, das schon längere Zeit gestanden hat. Sie arbeitet zwar mit erheblich kleineren Mengen als die Frank'sche Bestimmung, aber immerhin macht auch sie den Einstich in eine Vene nötig.

Sehr brauchbar für die Klinik scheint die Bang'sche Methode zu sein, und zwar mit der kleinen Modifikation, daß die Blutmengen nicht durch Wägung, sondern durch Messung bestimmt werden. Die Methode ist verhältnismäßig leicht zu erlernen und auszuführen, erfordert aber wie die Frank'sche sehr exaktes Arbeiten. Eine Bestimmung nimmt nicht länger als 15 bis 20 Minuten in Anspruch. Sie hat vor den beiden andern Methoden den großen Vorzug, daß sie mit sehr geringen Mengen arbeitet, die man den meisten Patienten öfters entnehmen kann. Die Resultate sind außerordentlich befriedigend und zeigen nur ganz geringe

Differenzen, die beim Gebrauch besonderer Pipetten vielleicht noch geringer werden. Man ist mit der Methode im Stande eine große Anzahl von Bestimmungen nebeneinander auszuführen und so zum Beispiel die Tagesschwankungen des Blutzuckergehaltes genau zu kontrollieren. Erst nach Feststellung der physiologischen Schwankungen wird man die klinisch so überaus wichtigen pathologischen Schwankungen richtig zu beurteilen lernen. Man wird daher, wenn sich die Methode weiter bewährt, in der Forschung nach den Ursachen des Diabetes einen großen Schritt weiter kommen. Es steht zu erwarten, daß in nicht allzulanger Zeit zur vollständigen klinischen Untersuchung auch die Blutzuckerbestimmung gehören wird.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Oberarzt Dr. Schreiber für die Anregung und Hergabe des Materials zu dieser Arbeit sowie für seine bei den Versuchen mir zuteil gewordene Unterstützung meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Literatur.

1) Rolly und Oppermann, Biochem. Zeitschr. 1913, 48, S. 60.

2) Reicher und Stein, Biochem. Zeitschr. 1911, 37, S. 321.

3) Bang, Der Blutzucker, 1913.

4) Michaelis nnd Rona, Biochem. Zeitschr., Nr. 8, S. 356, 1908.

5) Möckel und Frank, Zeitschr. für physiol. Chemie 69, S. 85, 1910.

6) Schirokauer, Berl. klin. Wochenschr., Nr. 38, S. 1984, 1912.

Lebenslauf.

Ich, Walter Westphal wurde am 5. Juni 1888 als Sohn des im Jahre 1903 verstorbenen Justizrats Ernst Westphal zu Berlin geboren, evangelisch, besuchte das Gymnasium zu Gr.-Lichterfelde, bestand daselbst Ostern 1907 die Reifeprüfung, studierte auf den Universitäten Freiburg, Berlin, Würzburg, wo ich im Juli 1909 das Physikum bestand, sodann in Berlin, wo ich im August 1912 das medizinische Staatsexamen bestand, war vom 1. Oktober 1912 bis 30. April 1913 mit einer Unterbrechung von 2½ Monaten, während derer ich an der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses Magdeburg-Altstadt arbeitete, an der inneren Abteilung des Krankenhauses Magdeburg-Sudenburg als Medizinalpraktikant tätig, seit dem 1. Mai 1913 bin ich an der chirurgischen Abteilung des Herzoglichen Landkrankenhauses zu Gotha als Medizinalpraktikant tätig.